**МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ**

**Салум Ибрагим , О.А.Кочубей**

**Цель**: Ознакомление с современными методиками определения цитокинов в плазме крови

**Методы:** Изучение научно-методической литературы по современным методам определения цитокинов в плазме крови.

**Результаты*:*** изучены следующие вопросы темы – характеристика цитокинов, методика проведения определения провоспалительных цитокинов в плазме крови и их диагностическое значение.

Цитокины - группа полипептидных медиаторов с молекулярной массой (ММ) от 8 до 80 кДа, участвующих в регуляции защитных реакций организма. Они вовлечены фактически в каждое звено иммунитета, включая дифференцировку предшественников клеток иммунной системы, представление антигена, клеточную активацию и пролиферацию, экспрессию молекул адгезии и острофазового ответа.

Цитокины воздействуют на клетку через специфические рецепторы клеточной мембраны и вызывают активацию или подавление регулируемых ими генов. Эффект цитокинов проявляется уже при пикограммовых концентрациях.

Определение концентрации цитокинов в крови и других жидкостях тела имеет прогностическое значение. Для оценки тяжести заболевания и прогнозирования его течения целесообразно определять концентрацию про- и противовоспалительных цитокинов в динамике развития болезни. Цитокиновый статус организма важно оценивать и во время цитокинотерапии для оценки эффективности проводимого лечения и его оптимизации.

Для определения уровня цитокинов применяется набор реагентов, предназначенный для количественного определения цитокинов человека в плазме, сыворотке и культуральных жидкостях.

Метод определения основан на твердофазном «сэндвич» – варианте иммуноферментного анализа. Специфическими реагентами набора являются моноклональные антитела к цитокинам, сорбированные на поверхности лунок разборного планшета полистирола, конъюгат поликлональных антител к цитокинам с биотином и калибровочными образцами, содержащими цитокины.

На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубируют в лунках с иммобилизованными антителами. Имеющиеся в образцах цитокины связываются с иммобилизованными антителами. Несвязанный материал удаляется отмыванием. На второй стадии – связанные цитокины взаимодействует при инкубации с конъюгатом № 1 (антитела к цитокинам человека с биотином). Несвязанный конъюгат № 1 удаляется отмыванием. На третьей стадии связанный конъюгат № 1 взаимодействует при инкубации с конъюгатом № 2 (стрептавидин с пероксидазой хрена). После третьего отмывания количество связанного конъюгата № 2 определяют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы хрена – перекиси водорода и хромогенная – тетраметилбензидина. Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента и измеряют оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски пропорциональна количеству содержащегося в образце цитокина.

**Литература**

1. Демьянов A.B, Котов А.Ю., Симбирцев A.C. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике.// Цитокины и воспаление. Том 2, №3, 2003, стр.26-35.